



TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Instituto de Anatomia

Plastinização de secções axiais de encéfalo humano – Um atlas de Neuroanatomia

Maria Eduarda Neves

JUNHO'2018



TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Instituto de Anatomia

Plastinização de secções axiais de encéfalo humano – Um atlas de Neuroanatomia

Maria Eduarda Neves

Orientado por:

Professora Doutora Lia Lucas Neto

JUNHO'2018

RESUMO

Introdução/Objectivos:

Nos últimos anos a técnica de disseção e as lições práticas com cadáveres têm sido substituídas por modelos de plástico/cera, atlas, plataformas virtuais e imagiologia. Essa reestruturação deve-se à inclusão de novas tecnologias no atual curriculum médico, ao contínuo aumento do rácio aluno/tutor e à escassez de cadáveres/órgãos para a prática pedagógica, especialmente encéfalos humanos. Torna-se necessário procurar alternativas e complementar a disseção neuroanatômica elaborando modelos de alta qualidade e o mais reais possível, sem prejudicar o rigor da aprendizagem.

A plastinização é uma técnica de preservação de peças anatómicas bem estabelecida e que tem sido aplicada no Instituto de Anatomia da FMUL. O objectivo do presente trabalho é a construção de um atlas seccional plastinado de encéfalo humano para aplicação nas aulas de Neuroanatomia.

Material e Métodos:

Um encéfalo humano, após fixação em formol e remoção da pia/aracnoide, foi seccionado em fatias de 6mm no plano axial. As secções foram referenciadas e submetidas a um processo de plastinização, com fixação, desidratação, impregnação e endurecimento do tecido. Os planos axiais foram alinhados e montados em placas de acrílico, tendo sido construído um atlas referenciado e legendado das principais estruturas.

Resultados/Conclusão:

Os modelos obtidos apresentam um bom detalhe anatómico e diferenciação entre substância branca/cinzenta, com distorção mínima de estruturas. São duráveis, manuseáveis, inodoros e atóxicos e a introdução de uma legenda sobreposta permite a sua utilização para o ensino e a avaliação de conhecimentos dos estudantes. O projecto foi estendido e o protocolo está a ser aplicado a encéfalos em secções sagitais e coronais.

PALAVRAS-CHAVE: Neuroanatomia; Plastinização; Ensino; Atlas; Secções axiais

O Trabalho Final exprime a opinião da autora e não da FML.

ABSTRACT

Introduction/Objectives:

In the last years dissection technique and practical lectures with cadavers have been replaced by plastic/wax models, atlas, virtual platforms and imagiology. This restructuring is due to the inclusion of new technologies on the current medical curriculum, to the continuous increasing of the student/tutor ratio and to the lack of cadavers/organs available for pedagogical purposes, especially human brains. It is necessary to look for alternatives and to complement neuroanatomic dissection, elaborating models of high quality and realism, without harm learning rigor.

Plastination is a well-established anatomical specimen preservation technique and it has been applied on the Anatomy Department of Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa (FMUL). The objective of this project is to create an axial sectional atlas of plastinated human brain for pedagogical purposes in Neuroanatomy lectures.

Materials and Methods:

One human brain, after formaldehyde fixation and pia/arachnoid removal, was cut in 6mm axial slices. Cuts were referred and underwent to a plastination process, with tissue fixation, dehydration, impregnation and hardening. Axial cuts were aligned and built in acrylic plates. An axial atlas was created and main structures were subtitled.

Results/Conclusion:

Obtained models present a good anatomical details and differentiation between white and grey matter, with minor structures distortion. They are durable, manipulable and atoxic. An overlaid subtitle allows its use on lectures and student evaluation. The project had been extended and this protocol has been applied to sagittal and coronal brain slices.

KEY-WORDS: Neuroanatomy; Plastination; Teaching; Atlas; Axial sections

AGRADECIMENTOS

A realização deste Trabalho Final de Mestrado contou com inestimáveis apoios e incentivos intelectuais e emocionais, sem os quais este resultado não seria possível. Não sendo viável citar todas as pessoas que contribuíram direta ou indiretamente para a concretização deste projeto, gostaria de expressar o meu sincero e profundo agradecimento:

À minha mãe, Sabrina, e ao Filipe, pelo orgulho que têm mim, que foi uma força motriz. À Professora Doutora Lia Lucas Neto, pela inspiração, incentivo contínuo e admirável orientação deste trabalho.

Ao Professor Doutor António Gonçalves Ferreira, pela oportunidade de iniciar investigação laboratorial e pedagógica no Instituto de Anatomia logo no meu 3º ano do curso.

Ao Pedro Henriques, por ter partilhado o seu conhecimento em plastinização e pelo acompanhamento laboratorial.

Ao alunos estagiários Emanuel Oliveira, João Nobre e Márcio Ramos pelo interesse e participação neste projecto.

Ao André, pela presença e pela ajuda geométrica na delimitação dos bordos das páginas deste atlas.

À Acrilcorte, por ter gentilmente aceite cortar as margens das peças acrílicas.

Ao Instituto de Anatomia que recebeu a minha curiosidade e entusiasmo de braços abertos.

ÍNDICE

1.	Introdução	7
2.	Objetivos	9
3.	Materiais e Métodos	9
4.	Resultados	13
5.	Discussão	15
6.	Conclusão	17
7.	Bibliografia	18

INTRODUÇÃO

O ensino da Anatomia e Neuroanatomia tem mudado ao longo dos anos em muitas escolas médicas nacionais e internacionais. A técnica de disseção e as lições práticas com cadáveres tem vindo a ser substituída por aulas teóricas e/ou teórico-práticas com modelos de plástico ou cera, atlas desenhados, esquemas, plataformas virtuais e imagiologia, especialmente nos países europeus (Lozanoff et al, 2003; Latorre et al, 2007). Essa reestruturação do ensino deve-se a vários factores tais como o desenvolvimento e progressão de novas tecnologias, a sua inclusão no actual *curriculum* médico, o contínuo aumento do número de novos estudantes de medicina em cada ano e, consequentemente, de alunos por turma. Adicionalmente há a referir uma enorme escassez de cadáveres doados e órgãos disponíveis para a prática pedagógica, especialmente de encéfalos humanos. (Davis CR et al, 2014, Klaus et al, 2018). Por outro lado há a referir que a conservação em formol continua a ser a forma mais habitual de preservação de peças anatómicas, o que torna o seu manuseamento difícil, pouco higiénico, não esquecendo a sua toxicidade e potencial carcinogénico (Swenberg J et al, 2013, Songur et al, 2010). Deste modo, as oportunidades de contacto dos alunos com encéfalos humanos para disseção são diminutas e quando existem são com uma elevada razão discente/docente. Torna-se necessário procurar alternativas aos métodos mais clássicos e complementar a disseção neuroanatómica com opções o mais aproximado possível desta técnica, sem prejudicar o rigor e a aprendizagem da neuroanatomia (Lozanoff et al, 2003, Estai et al, 2016).

Estudos demonstram que os alunos têm preferência por aulas práticas com peças reais e que aprendem mais através do contacto com a anatomia concreta, carecendo os modelos plásticos e virtuais de autenticidade e realismo (Riederer BM, 2014, Davis CR et al, 2014). Verifica-se ainda um maior interesse quando as aulas incluem modelos verdadeiros devido à oportunidade de se poder visualizar diretamente nas peças várias estruturas anatómicas como núcleos de substância cinzenta e feixes de substância branca, simplificando o entendimento das suas relações estruturais (Latorre et al, 2007).

A plastinização é uma técnica de preservação de peças anatómicas bem estabelecida e desenvolvida em 1978 por Von Hagens (von Hagens, 1985; von Hagens et al., 1987). Tem como princípio a criação de modelos através de um processo de fixação, desidratação, impregnação e endurecimento a partir de tecido biológico. É superior a outras técnicas de preservação como a parafina e os modelos em formol devido à sua

maior durabilidade e menor distorção de estruturas. A plastinização permite a criação de modelos secos, duráveis, não-tóxicos e sem cheiro, que podem ser manuseáveis sem condições especiais de assepsia (Weinglein AH, 1997). A plastinização pode ser aplicada para a conservação de estruturas tridimensionais, através da utilização de silicones ou de inclusão em acrílico de fatias de tecido biológico, com algumas variações nos



Figura 1. Hemisfério cerebral humano plastinado. Acervo do Instituto de Anatomia da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa.

respectivos protocolos (von Hagens, 1979; von Hagens et al, 1987; von Hagens 1994; Henry RW et al 1999; Henry RW et al, 2007; Magiros M et al, 1997; Barnett RJ, 1997; Weinglein AH, 1997).

Esta técnica tem sido desenvolvida nos últimos anos no Instituto de Anatomia da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa. Nos primeiros anos de trabalho, foram desenvolvidos modelos tridimensionais de silicone após disseção por técnica de Klinger de hemisférios cerebrais (Figura 1), cerebelo, dura-máter, substância branca encefálica e sistema límbico (Comunicação pessoal no 18º Programa “Educação pela Ciência” – GAPIC, Dezembro de 2015). Estes modelos estão atualmente aplicados no ensino da Neuroanatomia, com um *feedback* positivo dos alunos relativamente à sua relevância e potencial de apoio pedagógico nas aulas práticas de neuroanatomia (Cavaco, 2015).

No entanto, após a construção e produção de vários modelos tridimensionais, surgiu a necessidade de complementar este trabalho com um atlas seccional estruturado de um encéfalo humano normal. Estudar a anatomia seccional em diferentes planos ortogonais permite conhecer a organização das suas estruturas profundas de forma mais detalhada e por outro lado facilita a simultânea aprendizagem da imagiologia por Tomografia Computorizada e por Ressonância Magnética, técnicas também realizadas em secções axiais, coronais e sagitais.

A técnica de plastinização de fatias de encéfalo é semelhante à que tem vindo a ser utilizada para estruturas tridimensionais e foi aperfeiçoada na década de 90 através da utilização da resina P40 (von Hagens, 1994).

Assim, para colmatar o reduzido contacto com encéfalos humanos e a falta de modelos biológicos em cortes seccionais durante a aprendizagem da neuroanatomia, é objetivo

deste trabalho a construção de um atlas seccional plastinado a partir de encéfalos humanos para aplicação nas aulas de Neuroanatomia na Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa.

OBJETIVOS

Criação/construção, a partir de material biológico plastinado, de um atlas seccional do encéfalo humano.

Expansão do acervo disponível no Instituto de Anatomia e aplicação do atlas criado nas aulas práticas de Neuroanatomia da Faculdade de Medicina de Lisboa.

MATERIAIS E MÉTODOS

Obtenção de um encéfalo humano adulto normal (sexo feminino, 46 anos), 24-48H após a morte, ao abrigo do acordo entre o Instituto de Anatomia da FMUL e o Instituto de Medicina Legal, subdelegação de Lisboa.

O encéfalo foi submetido aos passos fundamentais da plastinação segundo o seguinte protocolo:

Preparação e corte

O specimen foi parcialmente fixado com uma solução de formaldeído a 8% durante cerca de 2 meses, tendo sido posteriormente lavado com água corrente durante várias horas.

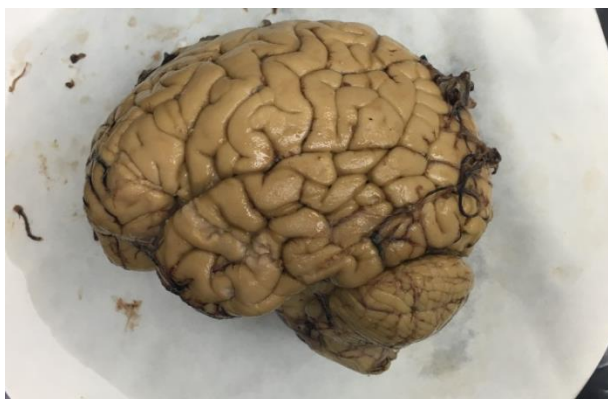


Figura 2. Encéfalo humano leptomeninges e vasos superficiais parcialmente removidos



Figura 3. *Rotary Slicer*

Procedeu-se à remoção da paquimeninge e posteriormente das leptomeninges e dos vasos superficiais em conjunto (Figura 2). Seguidamente, a peça foi cortada numa *Rotary Slicer*, com lâmina de 330 mm de diâmetro (Figura 3). Nesta máquina foram produzidas secções axiais de 6mm de espessura, no sentido superior-inferior, que incluíram o telencéfalo, diencéfalo, cerebelo e tronco cerebral, totalizando 15 secções (Figura 4A e 4B).



Figura 4. A e B) Corte das secções com a *Rotary Slicer*. C e D) Organização sequencial e referênciação das secções obtidas

Para diminuir o atrito e evitar a distorção de estruturas, a lâmina e o tecido foram continuamente humedecidos. Para evitar a degradação das fatias quando em contacto com o ar, os cortes foram colocados sobre papel de filtro húmido e rede de plástico, sendo transferidos para uma grelha de aço inoxidável. As grelhas foram organizadas de forma sequencial num recipiente largo de plástico para a etapa subsequente. Todas as secções foram referenciadas, numeradas e registadas fotograficamente (Figura 4C e 4D).

Desidratação

As peças foram submersas em acetona a -25°C , inicialmente a 80%, tendo sido semanalmente substituída por acetona a 85%, 90%, 95%, 97% e 100%, até obter uma pureza de cerca de 99% a 20°C (von Hagens 1986) durante cerca de 45 dias. A pureza da acetona foi medida com um acetómetro.

A substituição gradual e contínua da acetona tem como objectivo minimizar a retracção e distorção das estruturas (Henry e Latorre 2007).

Impregnação forçada sob vácuo

Foi preparada uma mistura de polímeros com a resina BIODUR P40 e o activador com função catalisadora BIODUR A4, numa proporção de 100:1. Os dois reagentes foram misturados contínua e lentamente durante 5 minutos. Seguidamente, os cortes seccionados foram incluídos num recipiente de vidro com fundo plano, separados por uma rede plástica. Preencheu-se o recipiente com a mistura BIODUR P40/BIODUR A4, até todas as peças estarem submersas (Figura 5).

O recipiente com as peças anatómicas foi transferido para uma câmara de vácuo, que, por sua vez, foi selada com GE Bayer Silicones. Um especial cuidado a ter nesta fase é proteger a câmara com as peças de quaisquer fontes de luz UV, inclusivamente a partir de janelas que foram recobertas com material preto opaco à radiação.

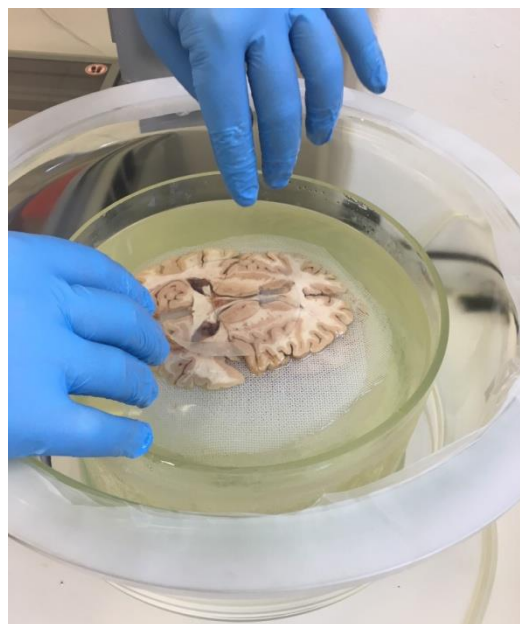


Figura 5. Imersão das secções no recipiente com a mistura BIODURP40/BIODURA4.

A bomba de vácuo foi ligada e a pressão interior foi diminuída gradualmente para a formação ativa de bolhas até 2mmHg durante 4 semanas, até não haver saída de bolhas das peças, indicando que a acetona existente foi substituída e que o tecido foi completamente impregnado pelo polímero.

Polimerização e Endurecimento

Foram elaboradas câmaras de vidro para cada secção ou conjunto de secções. Cada câmara foi constituída por duas placas de vidro de 26cm x 22cm, os bordos foram selados com um tubo de silicone de 7mm interposto entre as placas de vidro. Essa interposição foi fixada com a utilização de molas de orelha, exercendo pressão e tornando as câmaras seladas. Através de uma abertura numa aresta de menor eixo da câmara foram introduzidas uma ou mais secções de encéfalo, a mistura com o polímero até preencher a câmara e, ainda, uma ou duas pequenas esferas metálicas de 2mm. A extremidade aberta foi fechada com molas de orelha e a câmara foi selada com Biodur HS80. Com a utilização de um íman e das esferas metálicas, as secções foram centradas e orientadas dentro da câmara. Com uma agulha 18ga tentou-se eliminar quaisquer vestígios de ar que tivessem ficado retidos (Figura 6).

As câmaras de vidro foram colocadas horizontalmente numa plataforma plana entre duas fontes de radiação UV, onde passaram 24h para o seu endurecimento (Figura 7).

As placas de vidro foram retiradas e obteve-se secções de acrílico de cerca de 7mm, com as fatias de encéfalo plastinizadas.

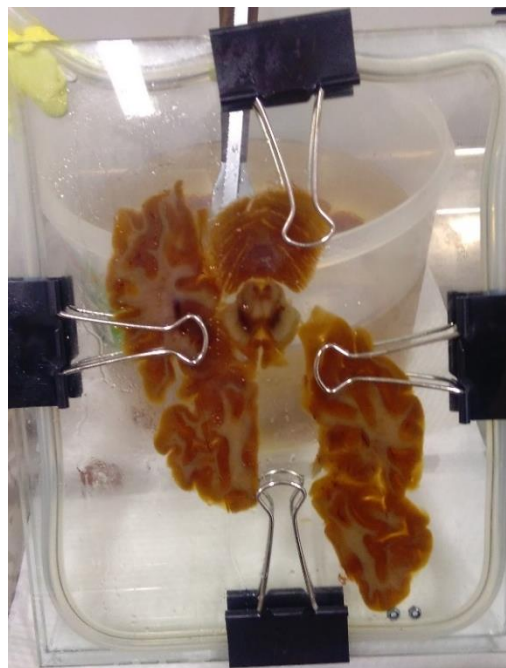


Figura 6. Câmara plano de vidro com secção axial e encéfalo. As pequenas esferas metálicas permitem o deslocamento das peças para correcto posicionamento.



Figura 7. A fonte de radiação UV catalisa o processo de endurecimento da resina.

Elaboração do Atlas

Concluída a plastinização, as arestas das placas obtidas foram cortadas com uma serra de acrílico e limadas. As principais estruturas de cada uma das peças foram numeradas numa folha de acetato sobreposta e a respectiva legenda foi transcrita para uma folha em separado, que fica na última página do atlas (Klinger 1956, Sobotta 2006, Felten 2009, Netter 2011).

As margens das placas acrílicas foram furadas na margem no sentido ântero-posterior e incluídas num *dossier* com eixo metálico, dispondo em forma de livro.

RESULTADOS

Foram produzidos 15 cortes axiais do encéfalo, que foram incluídos e impregnados em 11 placas acrílicas (Figura 8). As placas foram organizadas num *dossier*, organizadas no sentido ântero-posterior e com vista inferior.

Nas secções mais inferiores observam-se algumas estruturas do cerebelo, como o vérmis, mais evidente nas secções 2.B, 1.A e 1.B. Ao nível do tronco cerebral a distinção dos núcleos não é tão evidente, mas é possível identificar de estruturas como a substância nigra na secção 2.A.

Por outro lado, as secções que incluem os núcleos da base permitem uma óptima definição e diferenciação, como é visível nas placas 3 a 8 estruturas como os tálamos, putamen, globus palidus, núcleos caudados, cápsulas interna, externa e extrema, joelho e esplénio do corpo caloso, fórceps major e fórceps minor, havendo uma boa gradação de cores sem necessidade de colocação artificial (Figura 9).

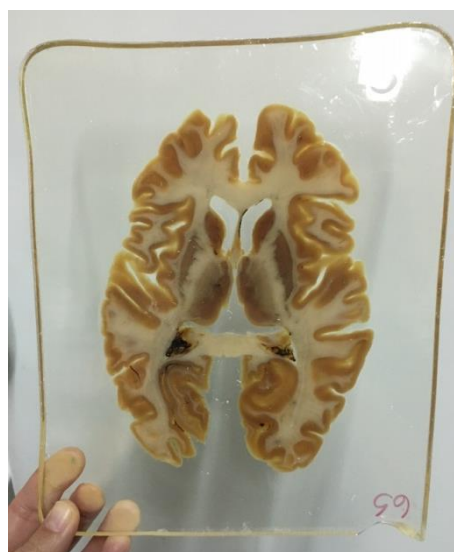


Figura 8. Secção de acrílico com fatia de encéfalo plastinizada.

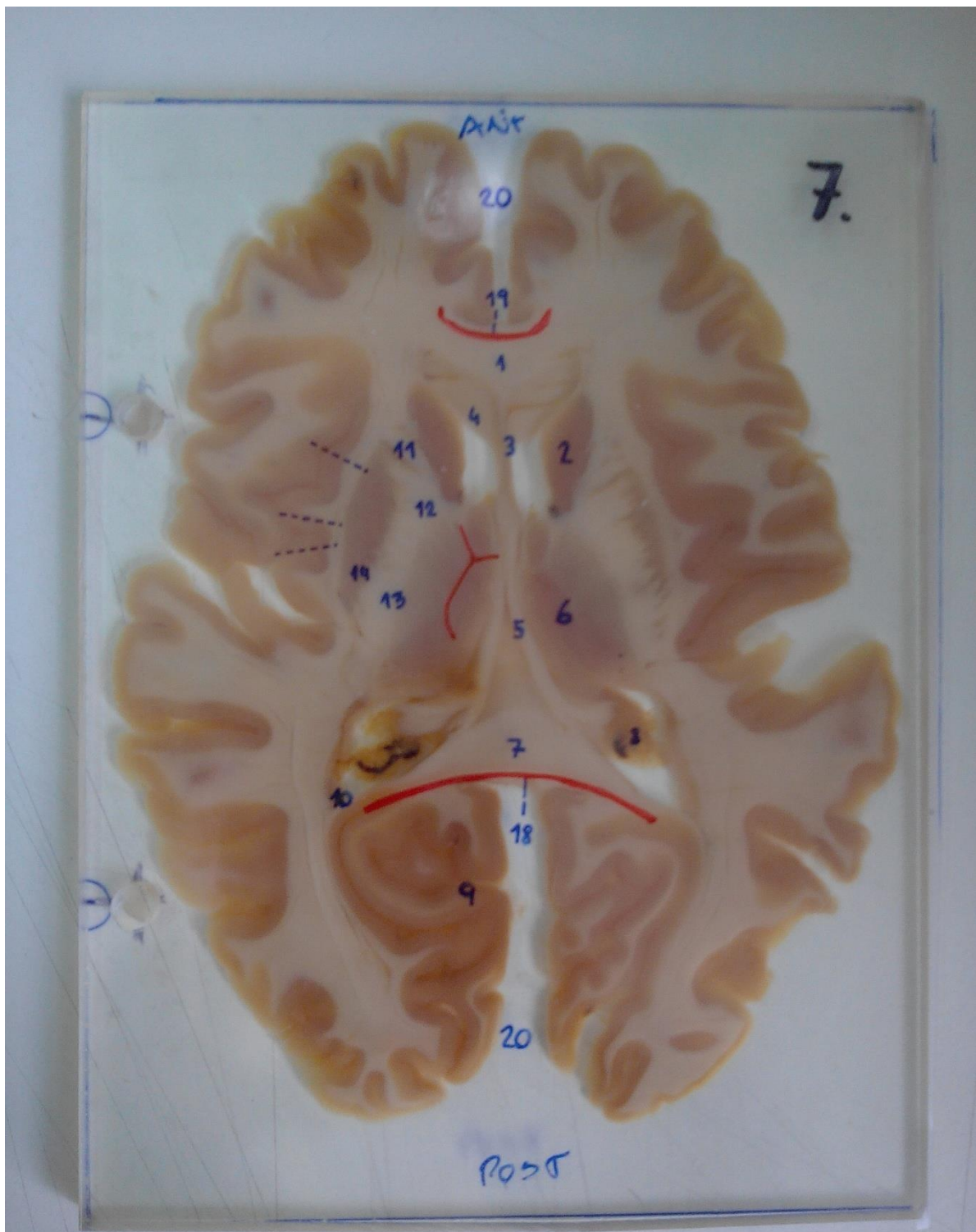


Figura 9. Exemplo de placa acrílica com numeração em acetato sobreposta. Plate 7. Estruturas numeradas de 1 a 20. 1 – Joelho do corpo caloso 2 – Cabeça do núcleo caudado 3 – Septo pelúcido 4 – Corno frontal do ventrículo lateral 5 – Fórnix 6 – Tálamo 7 – Esplénio do corpo caloso 8 – Plexo coroídeo 9 – Sulco calcarino 10 – Corno occipital do ventrículo lateral 11 – Braço anterior da cápsula interna 12 – Joelho da cápsula interna 13 – Braço posterior da cápsula interna 14 – Putamen 15 – Cápsula externa 16 – Claustrum 17 – Cápsula extrema 18 – Fórceps major 19 – Fórceps minor 20 – Fenda interhemisférica/Fissura longitudinal do cérebro

Nos cortes mais superiores, a arquitectura do córtex aprisionou pequenas bolhas de ar que não foram devidamente eliminadas na preparação da câmara de vidro, pelo que se observam pequenas imperfeições na superfície das respectivas placas.

Os cortes de acrílico ficaram organizados num *dossier*, sendo possível ver as placas com ou sem numeração e consultar as legendas (Figura 10).

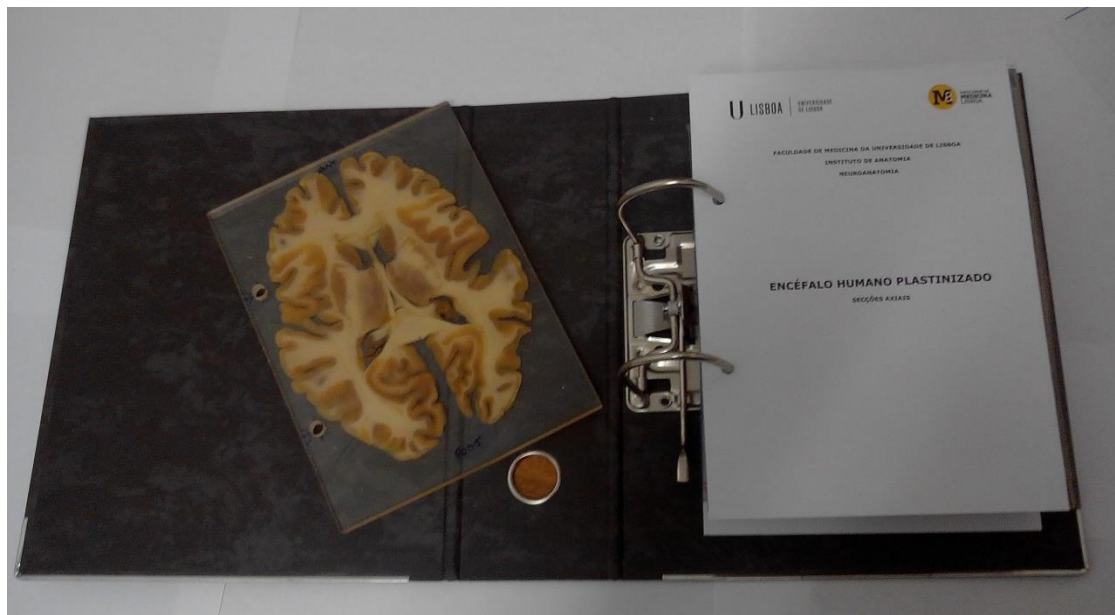


Figura 10. Atlas de Neuroanatomia plastinado.

DISCUSSÃO

A plastinização segundo a técnica do P40 permitiu uma boa diferenciação entre substância branca e cinzenta. Os modelos obtidos são duráveis, inodoros e facilmente manuseáveis, permitindo a sua utilização em demonstrações, aulas práticas e estudo autónomo dos alunos.

Os alunos, não tendo oportunidade de muito contacto com modelos biológicos, disseção ou atividade laboratorial, podem utilizar deste material para um contacto mais próximo ao tecido vivo. A experiência com modelos reais aumenta o entusiasmo na aprendizagem face a um equivalente de plástico, visto que os estudantes interessam-se e apreciam mais as aulas quando expostos a tecido biológico. A consciência de que o modelo corresponde a uma pessoa gera uma maior identificação mais com a matéria lecionada.

Os modelos obtidos apresentam um bom detalhe anatómico e diferenciação entre substância branca e cinzenta, com distorção mínima de estruturas, sendo mais realistas do que os mesmos cortes em atlas ilustrados ou nos modelos de plástico. Facilitam a

comparação entre estruturas no mesmo corte ou a mesma estrutura em diferentes níveis. Outra vantagem relativamente às peças anatómicas de plástico e atlas desenhados é a percepção do tamanho real das estruturas, que muitas vezes é de difícil compreensão para os alunos que estudam maioritariamente através de modelos esquemáticos e livros de texto.

As secções permitem não só identificar e relacionar diferentes estruturas no mesmo plano *in vivo*, mas também compreender os diferentes níveis de apresentação de núcleos e feixes no encéfalo, como por exemplo, a diferente apresentação do núcleo caudado e a sua relação com a cápsula interna num corte mais superior e ou mais inferior.

Um cuidado a ter nos próximos protocolos é evitar ao máximo a acumulação de bolhas durante a inclusão das fatias para o endurecimento. As bolhas de ar impedem a correta distribuição do polímero, havendo pequenas falhas na placa endurecida. As secções mais difíceis de garantir a distribuição uniforme de polímero foram as que incluíam extensa superfície cortical, devido à variação de textura e aos contornos das circunvoluções e sulcos.

As folhas de acetato sobrepostas proporcionam a observação e estudo das diferentes camadas de encéfalo com ou sem legenda, possibilitando o estudo das estruturas com apoio das legendas ou sem estas para aferição de conhecimentos, quer no estudo autónomo, quer em momentos de avaliação formais.

Uma vez que a introdução de técnicas de imagem nos novos currículos ocorre cada vez mais cedo, desde o primeiro ano do curso de Medicina, a vista inferior escolhida permite uma visualização dos cortes axiais na mesma perspectiva que os exames de imagens, como RMN e TAC, pelo que o estudo pode ser diretamente complementado com a comparação com exames imagiológicos.

Por fim, permite ainda evitar o desperdício de encéfalos humanos. Devido à sua escassez, a plastinização permite que, após o estudo, o material não seja descartável ou pouco durável, aumentando a vida útil do órgão enquanto peça anatómica.

Este projecto, que conta com a colaboração de alunos estagiários, é um subtrabalho dentro de vários outros que decorrem no Instituto de Anatomia, com o objectivo de criar diferentes tipos de modelos para o ensino, incluindo ossos e modelos vasculares através de impressão 3D e plastinização após dissecação pela técnica de Klinger.

A espessura dos cortes permitiu um estudo pormenorizado das estruturas telencefálicas e diencefálicas e um estudo primário das estruturas do cerebelo e tronco cerebral. Noutro projeto futuro, objetiva-se focar nestes segmentos com a utilização de secções menos

espessas e, possivelmente, com a aplicação de coloração para realçar os núcleos destas estruturas.

CONCLUSÃO

A plastinização é uma técnica de conservação bem estabelecida que apresenta várias vantagens relativamente à conservação com formol ou parafina. A obtenção de modelos duráveis, manuseáveis, inodoros e atóxicos permite a sua utilização no ensino e na avaliação dos estudantes de neuroanatomia durante vários anos.



Figura 11 . Secções sagitais de encéfalo humano. O protocolo descrito está a ser reproduzido para a criação de um atlas nos três planos.

O Instituto de Anatomia da Faculdade de Medicina de Lisboa tem vindo, nos últimos anos, a produzir modelos tridimensionais do Sistema Nervoso Central e agora também dispõe de um atlas legendado com secções axiais do encéfalo humano.

O protocolo descrito está presentemente a ser aplicado a dois outros encéfalos, tendo sido feitos cortes coronais e sagitais, de modo a obter um Atlas de Neuroanatomia nos três planos do espaço (Figura 11).

No futuro pretende-se complementar os atlas através de imagens obtidas por Ressonância Magnética para que os alunos possam fazer uma correspondência imagiológica simultânea, indo ao encontro de um ensino integrado desde os primeiros anos do curso de Medicina. Outro projeto visa, ainda, a construção de secções menos espessas para o estudo pormenorizado do tronco cerebral e cerebelo.

BIBLIOGRAFIA

- Barnett, R. J. (1997). Plastination of Coronal and Horizontal Brain Slices using the P40 Technique. *J Int Soc Plastination* 12(1), 33–36.
- Cavaco, J. L. D. (2015). Plastinização de Encéfalos Após Tratografia e Dissecção de Fibras pela Técnica de Klingler - Criação de Modelos 3-D aplicáveis ao ensino da Neuroanatomia. Trabalho Final do Mestrado Integrado em Medicina.
- Cooper, M. (1990) The technique and use of plastinated specimens in teaching and research: Gross anatomical sections of the head and neck. *J Int Soc Plastination* 4:4.
- Davis, C. R., Bates, A. S., Ellis, H., & Roberts, A. M. (2014). Human anatomy: Let the students tell us how to teach. *Anatomical Sciences Education*, 7(4), 262–272. <http://doi.org/10.1002/ase.1424>
- Estai, M., & Bunt, S. (2016). Best teaching practices in anatomy education: A critical review. *Annals of Anatomy*, 208, 151–157. <https://doi.org/10.1016/j.aanat.2016.02.010>
- Henry R. W., Latorre R. (2007) Polyester plastination of biological tissue: P40 technique for brain slices. *J Int Soc Plastination* 22:56-68.
- Henry R.W., Weinglein A. (1999) Sheet plastination of brain slices - P40 procedure. *J Int Soc Plastination* 14(2):32.
- Heptonstall, N. B., Ali, T., & Mankad, K. (2016). Integrating radiology and anatomy teaching in medical education in the uk-the evidence, current trends, and future scope. *Academic Radiology*, 23(4), 521–526. <http://doi.org/10.1016/j.acra.2015.12.010>
- Klaus, R. M., Royer, D. F., & Stabio, M. E. (2018). Use and perceptions of plastination among medical anatomy educators in the United States. *Clinical Anatomy*, 31(2), 282–292. <http://doi.org/10.1002/ca.23025>
- Latorre, R. M., García-Sanz, M. P., Moreno, M., Hernández, F., Gil, F., López, O., ... Henry, R. W. (2007). How Useful Is Plastination in Learning Anatomy? *Journal of Veterinary Medical Education*, 34(2), 172–176. <http://doi.org/10.3138/jvme.34.2.172>
- Latorre, R., Bainbridge, D., Tavernor, A., & López Albors, O. (2016). Plastination in Anatomy Learning: An Experience at Cambridge University. *Journal of Veterinary Medical Education*, 43(3), 226–234. <http://doi.org/10.3138/jvme.0715-113R1>
- Lozanoff, S., Lozanoff, B. K., Sora, M.-C., Rosenheimer, J., Keep, M. F., Tregear, J., ... Alverson, D. (2003). Anatomy and the Access Grid: Exploiting plastinated brain sections

for use in distributed medical education. *The Anatomical Record*, 270B(1), 30–37.
<http://doi.org/10.1002/ar.b.10006>

Magiros M., Kekic M., Doran G.A. (1997) Learning relational anatomy by correlating thin plastinated sections and magnetic resonance images: preparation of specimens. *Acta Anatomica* 158:37–43.

Riederer, B. M. (2014). Plastination and its importance in teaching anatomy. Critical points for long-term preservation of human tissue. *Journal of Anatomy*, 224(3), 309–315.
<http://doi.org/10.1111/joa.12056>

Rierpertinger A. Fixation of human brain for plastination: Special considerations. *J Int Soc Plastination* 2(1):8-12, 1988

Songur A., Ozen O.A., Sarsilmaz M. (2010). Reviews of Environmental Contamination and Toxicology Vol 203;203:105-118. doi:10.1007/978-1-4419-1352-4ma

Steinke, H., Pfeiffer, S., & Spanel-Borowski, K. (2002). A new plastination technique for head slices containing brain. *Annals of Anatomy*, 184(4), 353–358.
[http://doi.org/10.1016/S0940-9602\(02\)80055-3](http://doi.org/10.1016/S0940-9602(02)80055-3)

Swenberg J.A., Moeller B.C., Lu K., Rager J.E., Fry R., Starr T.B. (2013). Formaldehyde Carcinogenicity Research: 30 Years and Counting for Mode of Action, Epidemiology, and Cancer Risk Assessment. *Toxicol Pathol*, 41(2):181-189.

Tiedemann K, D Ivic-Matijas. Dehydration of macroscopic specimens by freeze substitution in acetone. *J Int Plastination* 2(2):2-12, 1988

von Hagens, G. (1979). Impregnation of soft biological specimens with thermosetting resins and elastomers. *The Anatomical Record*, 194(2), 247–255.
<http://doi.org/10.1002/ar.1091940206>

von Hagens, G. (1994) Plastination of brain slices according to the P40 procedure. A step-by-step description. 23 pages

von Hagens, G., Tiedemann, K., & Kriz, W. (1987). The current potential of plastination. *Anatomy and Embryology*, 175(4), 411–421. <http://doi.org/10.1007/BF00309677>

Weinglein, A. H. (2014) Plastination in the Neurosciences. Keynote Lecture. *Acta Anatomica*, 158:6-9